Untersuchungen über die Wirkung des Bors auf Helodea canadensis

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
genehmigt von
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Wolfgang Macke
aus Berlin

Mit 2 Tafeln im Text

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1939

Untersuchungen über die Wirkung des Bors auf Helodea canadensis

---

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
genehmigt von
der Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Fakultät
der Friedrich-Wilhelms-Universität zu Berlin

von

Wolfgang Macke
aus Berlin

Mit 2 Tafeln im Text

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Februar 1939
Tag der Promotion: - 5. 7. 39.

Jena
Verlag von Gustav Fischer
1939

Referenten: Professor Dr. Kurt Noack
Professor Dr. L. Diels

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

Sonderabdruck aus „Zeitschrift für Botanik", 34. Band, Heft 6
Herausgegeben von Prof. Dr. Kurt Noack, Prof. Dr. Friedrich Oehlkers
u. Geh. Hofrat Prof. Dr. Friedrich Oltmanns
Verlag von Gustav Fischer in Jena

I. Einleitung.

Die Vielgestaltigkeit, die das Borproblem angenommen hat, gab den Anlaß, durch Behandlung mit Bor in einfach gebauten Organen Reaktionen der Zelle hervorzurufen, die das Bild von der Borwirkung nach der zellphysiologischen Seite hin erweitern. In dieser Richtung liegen wenige Arbeiten vor. Schmucker (1933, 1935) untersuchte die Pollen einer großen Anzahl von Pflanzen in bezug auf ihre Keimungsphysiologie und stellte bei einigen Arten, vor allem tropischen Nymphaeen, die Bedeutung der Borsäure für die Pollenkeimung fest. Borsäure in 0,01proz. und 0,001proz. Konzentration fördert die Seerosenpollenkeimung, was sich in Erhöhung des Keimprozentsatzes und Beschleunigung des Pollenschlauchwachstums ausdrückt. Fehlt Borsäure, so kann bei einigen Arten die Keimung stark verzögert oder sogar ganz verhindert werden. Nach erfolgter Pollenkeimung tritt bei Borsäuremangel Stillstand des Schlauchwachstums oder in einigen Fällen sogar Platzen des Pollenschlauches ein. Schmucker erscheint es fraglich, ob die Borsäure in die Wandsubstanz selbst eingeht, er vermutet aber doch, daß die Borsäure vermöge der Fähigkeit mit hydroxylreichen organischen Körpern wie Zuckern u. a. Verbindungen von stärkerem Säurecharakter zu bilden, direkt in die Bildung der Membranen eingreift. Rehm (1937) prüfte den Einfluß der Borsäure auf Wachstum und Salzaufnahme von Impatiens balsamina und fand, daß das Bor grundlegend in die Aufnahme aller Nährstoffe eingreift, ohne daß sich Be-

ziehungen zur Aufnahme bestimmter Elemente finden ließen. Seine Behauptung, daß das Bor nur eine periphere Wirkung ausübt und daher im Pflanzeninnern nicht vorhanden zu sein brauche, widerspricht den älteren Angaben von Brenchley und Warington (1927) und ist neuerdings auch von Maier (1938) mit guten Gründen abgelehnt worden.

II. Material und Methodik.

Helodea canadensis schien für die gestellte Aufgabe ein sehr brauchbares Objekt zu sein. Einmal wird das Bor auch in größeren Mengen von dieser Pflanze bemerkenswert gut vertragen, außerdem bleiben die natürlichen Bedingungen, unter denen diese Wasserpflanze wächst, bei Kultur in Nährlösungen weitgehend erhalten. Auch liegt über ihr zellphysiologisches Verhalten schon reiche Erfahrung vor.

Das Pflanzenmaterial stammte aus dem Freilandbecken des Institutes und wurde im Winter im Kalthaus sowie in Aquarien kultiviert, die an einem Nordfenster des Institutes Aufstellung fanden. Als Versuchsgefäße dienten Erlenmeyerkolben aus Jenaer Glas von 30c—2000 ccm Inhalt. Für die Bormangelversuche und diejenigen Reihen, bei denen nur kleinste Mengen Bor zugegeben wurden, kamen Erlenmeyerkolben aus Quarz zur Verwendung. Licht- und Dunkelversuche standen im gleichen Raum, um etwaige Temperaturunterschiede zu vermeiden: Dunkelkulturen in großen Blechkästen, Lichtkulturen im Tageslicht an einem Nordfenster und im künstlichen Licht an einer mit Wasserkühlung versehenen Beleuchtungsanlage, deren Lichtstärke der durchschnittlichen Intensität des Tageslichtes am Nordfenster ungefähr entsprach. In die Kulturgefäße wurde immer nur so viel Flüssigkeit hineingegeben, daß ein genügender Luftraum oben erhalten blieb; um einen ständigen Luftaustausch einigermaßen zu gewährleisten, wurden sämtliche Versuchsgefäße nur mit lockeren Wattebäuschen verschlossen. Bei der Auswahl des Versuchsmaterials wurde in Berücksichtigung vorliegender Erfahrungen über altersabhängige Viskositätsunterschiede bei Helodeablättern und -sprossen besonders auf die Gleichwertigkeit des Materials für Versuche und Kontrollen geachtet. Meist kamen benachbarte Seitensprosse eines gemeinsamen Hauptsprosses zur

Verwendung, die unter gleichen Bedingungen aus den Knospen ausgetrieben waren. Verglichen wurden immer die in gleicher Höhe stehenden, also gleich alten Blätter. Häufig wurden auch nur Sproßabschnitte benutzt: das obere und untere Ende eines Sprosses wurde abgeschnitten und dieser in eine Anzahl von Abschnitten zerlegt, deren jeder fünf Blattwirtel lang war. Sollte nun die Wirkung einer borhaltigen Lösung auf die Pflanze untersucht werden, so wurde der ursprünglichen Reihenfolge nach immer ein Abschnitt in die Borlösung gegeben und der benachbarte als Wasserkontrolle benutzt. Dementsprechend wurden bei Versuchen mit einzelnen Blättern immer Blätter benachbarter Wirtel miteinander verglichen.

Natürlich mußte Nährsalzmangel ausgeschlossen und eine den Ansprüchen genügende Nährlösung gefunden werden. Nach vergleichenden Versuchen mit den Lösungen nach Shive, Knop, Pfeffer-Knop und von der Crone, fiel die Wahl auf die Knopsche Nährlösung und die Modifikation der von der Croneschen Lösung nach Merkenschlager, wie sie Kalchhofer im besonderen für Helodea canadensis erprobt hat. Die Zusammensetzung der Nährlösungen war folgende:

1. Knopsche Nährlösung.		2. Nährlösung nach von der Crone-Merkenschlager.	
$Ca(NO_3)_2$	0,30 g	KNO_3	1,00 g
KCl	0,075 g	$Ca_3(PO_4)_2$	0,25 g
$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,075 g	$Fe_3(PO_4)_2$	0,25 g
KH_2PO_4	0,075 g	$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,50 g
$FeCl_3$	Spuren	$CaSO_4 + 2\,H_2O$	0,50 g
Wasser	300 ccm	Wasser	1000 ccm

Der p_H-Wert der Knopschen Nährlösung bewegte sich während der Versuchsdauer zwischen 5,8 und 7,0, der p_H-Wert der von der Crone-Merkenschlagerschen Lösung zwischen 6,3 und 6,8.

Das Bor wurde als Borsäure und Borax (reinst von Merck) gegeben. Außerdem fanden Borsäure-Borax-Pufferlösungen Verwendung, deren p_H-Bereich sich zwischen 8,69 und 6,77 bewegte. Die Stammlösungen setzten sich wie folgt zusammen: Borsäurestammlösung 12,404 g H_3BO_3 pro Liter; Boraxstammlösung

19,108 g $Na_2B_4O_7 + 10\ H_2O$ pro Liter. Die Borsäurestammlösung war also 1,25proz. oder $^1/_5$ molar, die Boraxstammlösung etwa 2proz. oder $^1/_{20}$ molar. Von diesen Stammlösungen wurden Verdünnungen hergestellt, und zwar 1 : 10 und 1 : 100. Daneben wurde Borsäure in einigen Versuchen noch gegeben mit 62 mg pro Liter und Borax mit 25,3 mg pro Liter. Um festzustellen, welche Mengen Bor genügen, um eine nachweisbare Wirkung auszuüben, wurden Konzentrationsreihen von 500 bis herunter zu 0,0005 mg Borsäure pro Liter angesetzt, was einem Prozentgehalt an Borsäure von 0,05 bis 0,000 000 5 entspricht.

Bei der Mehrzahl der Versuche genügte die Verwendung von einfach destilliertem Wasser, das in seiner Wirkung mit dreifach destilliertem übereinstimmte. Bei Bormangelversuchen und Versuchen mit kleinen Borproben kam nur über Quarz destilliertes Wasser zur Verwendung.

III. Widerstandsfähigkeit gegen Bor.

Zunächst galt es, das Verhalten der Helodea bei Kultur in borhaltigen Lösungen systematisch zu untersuchen und die Widerstandsfähigkeit gegenüber verschiedenen Borkonzentrationen zu prüfen. Es wurde mit starken, mittleren und schwachen Konzentrationen gearbeitet. In der ersten Gruppe fanden folgende Stammlösungen Verwendung: eine 1,25proz. Borsäurelösung und eine 2proz. Boraxlösung sowie aus diesen Komponenten zusammengesetzte Borax-Borsäure-Lösungen. In der zweiten Gruppe wurden die Lösungen der ersten Gruppe in zehnfacher Verdünnung verwandt: eine 0,12proz. Borsäurelösung, eine 0,20proz. Boraxlösung und wieder aus beiden kombinierte Lösungen. Die Versuchslösungen der dritten Gruppe bestanden in der 100fachen Verdünnung der ersten Gruppe, also in einer 0,01proz. Borsäurelösung, einer 0,02proz. Boraxlösung und in den aus beiden zusammengesetzten Borax-Borsäure-Lösungen.

Die Wirkung der Borlösungen wird gekennzeichnet durch die pathologischen Symptome und die Tötungszeiten.

1. Die Wirkung der starken Konzentrationen.

Zu diesen Versuchen wurden wegen der zu erwartenden starken Wirkungen keine ganzen Sprosse, sondern nur einzelne Blätter

verwandt. Ein Sproßabschnitt mit 10 Wirteln und möglichst gleichen Blättern wurde so aufgeteilt, daß der erste Wirtel in die Borlösung kam, der zweite als Kontrolle in Wasser, der dritte wieder in Bor, der vierte in Wasser usw., so daß eine Versuchsreihe immer 10 Esmarchschälchen umfaßte, wovon 5 mit Borlösung und 5 mit Wasser gefüllt waren. Jedes Schälchen enthielt 3 Blätter. Es wurden je 20 solcher Versuchsreihen für Borsäure, Borax und Borax-Borsäure-Lösungen angesetzt.

a) 1,25proz. Borsäurelösung (p_H-Wert 5,8): Nach mehrstündiger Einwirkung ließ sich meist eine Verstärkung der Protoplasmaströmung gegenüber den Kontrollen feststellen. Irgendwelche Farbänderungen traten nicht auf. Die Blätter blieben immer länger als 24 Std., jedoch nur in wenigen Fällen mehr als 48 Std. am Leben. Der Tod zeigte sich langsam an durch den Stillstand der Plasmaströmung und das Unvermögen zur Plasmolyse. Der Absterbeprozeß ging von der Spitze zur Basis und von den Rändern zur Mittelrippe hin.

b) 2proz. Boraxlösung (p_H-Wert 9,4): Die Wirkung der Boraxlösung war sehr stark. Die Zellen erlitten bald nach dem Einlegen in die Lösung einen Schock, so daß es hier nicht zu der bei Borsäurebehandlung beobachteten Beschleunigung der Protoplasmaströmung kommen konnte. Nach 2—4 Stunden starben die Zellen des ganzen Blattfeldes, indem das Zytoplasma plötzlich zerriß. Gegenüber dem verhältnismäßig langsamen Tod in Borsäure muß der Boraxtod als krampfartig gekennzeichnet werden.

c) Borax-Borsäure-Lösungen (p_H-Werte 7,3 bis 8,6): Es wurden aus der 1,25proz. Borsäurelösung und der 2proz. Boraxlösung drei verschiedene Mischungen hergestellt: Erstens: Boraxlösung 6 ccm, Borsäurelösung 4 ccm (p_H-Wert 8,7). Zweitens: Boraxlösung 4 ccm, Borsäurelösung 6 ccm (p_H-Wert 8,3). Drittens: Boraxlösung 1 ccm, Borsäurelösung 9 ccm (p_H-Wert 7,3). In keinem Fall lebten die Blätter länger als 24 Std., immer aber mehr als 5 Std. Je größer der Borsäureanteil war, um so widerstandsfähiger blieben die Zellen; je größer der Boraxanteil war, um so heftiger und früher trat der Tod ein. Die Widerstandsfähigkeit wird also bestimmt von

dem Anteil der beiden Komponenten in der Versuchslösung. Es handelt sich hier nicht um eine Wirkung der Wasserstoffionenkonzentration; denn phosphatgepufferte Borsäurelösungen vom p_H-Wert 8,3 hatten nicht die starke Wirkung des Borax oder der Gemische mit starkem Boraxanteil, sondern die der Borsäure oder der Gemische mit überwiegendem Borsäureanteil. Borax erwies sich überhaupt als schädlicher.

2. Die Wirkung der mittleren Konzentrationen.

Im Gegensatz zu den starken konnte bei den mittleren Konzentrationen ein deutlicher Unterschied im Verhalten bei Licht und Dunkel festgestellt werden. Da hier mit größerer Widerstandsfähigkeit, also längeren Versuchszeiten zu rechnen war, wurden zu diesen Versuchen ganze Sprosse an Stelle von einzelnen Blättern genommen, und zwar, wie schon einleitend bemerkt, möglichst immer einander gleichwertige Seitensprosse eines gemeinsamen Hauptsprosses. Die Kulturen wurden in Erlenmeyerkolben angesetzt, teils mit, teils ohne Nährlösungen, was aber keinerlei Unterschiede in den Befunden gab.

a) 0,1 proz. Borsäurelösung (p_H-Wert 5,9): Während der bis zu 14 Tagen ausgedehnten Versuchszeiten verhielten sich die Wasserkontrollen normal, das heißt: im Licht blieben die Blätter unverändert grün, die Plastiden behielten ihre normale Größe und füllten den Zellraum weitgehend aus. Die Kerne waren schwer zu erkennen, die Plasmaströmung war in den Zellen der Mittelrippe lebhafter, sonst gering. Im Dunkeln war die Farbe der Plastiden nach einigen Tagen nicht mehr sattgrün, sondern mehr wässeriggrün; die Größe der Plastiden blieb aber unverändert.

Die Borpflanzen im Licht lebten 8—12 Tage, die im Dunkeln nur 2 bis höchstens 5 Tage. Im Licht ging die Absterbefolge von der Spitze zur Basis und von den Randzellen zur Mittelrippe hin, im Dunkeln trat der Tod ziemlich gleichzeitig im ganzen Blattfeld ein. Ebenso wie aus den Tötungszeiten geht der Licht-Dunkel-Unterschied auch aus den pathologischen Symptomen deutlich hervor. Die Borpflanzen im Licht zeigten zu-

nächst eine lebhaftere Plasmaströmung, um dann nach einigen Tagen eine hellere Farbe zu bekommen. Durch Abbau des Chlorophylls wurden die Plastiden heller grün bis gelblich und verkleinerten ihren Durchmesser. Dadurch wurden die Zellen durchsichtiger und meist die Zellkerne deutlicher sichtbar. Besonders bemerkenswert war bei Borkultur im Licht die Ausbildung von merkwürdigen, nach innen gerichteten Auswüchsen der Zellwände, häufig gerade an den Stellen, wo der Zellkern der Wand anlag. Diese Erscheinung wird später eingehender beschrieben werden. Auffallend war, daß die Blattzähne die übrigen Randzellen bis zu 3 Tagen überlebten. Das ist bemerkenswert, weil nach Weber (1932) die Blattzähne säureempfindlicher als die übrigen Blattrandzellen sind und die Blattzähne mit den Blattrandzellen auch sonst häufig als die Zonen des Helodea-Blattes bezeichnet werden, in denen Reaktionen zuerst vor sich gehen. In den Bor-Dunkelblättern waren während ihrer kurzen Lebensdauer keine Farbänderungen oder Veränderungen der Plastidengröße zu beobachten. Auch Wandauswüchse und Überleben der Blattzähne wurde hier nicht beobachtet.

Die Differenz in den Tötungszeiten zwischen Licht und Dunkel scheint nicht vom Chlorophyllgehalt abhängig zu sein; denn nichtgrüne Organe verhielten sich ebenso. Sowohl die Wurzeln von Helodea als auch Wurzeln von Weizenkeimlingen und Trianea bogotensis starben bei Kultur in 0,1proz. Borsäurelösung im Dunkeln 2—3mal früher als unter gleichen Verhältnissen im Licht. Diese eigenartige Erscheinung ist in mehr als 50 Versuchen beobachtet worden, zur Zeit aber einer Erklärung unzugänglich. Sie soll im Institut weiter verfolgt werden.

b) 0,2 proz. Boraxlösung (p_H-Wert 8,9): Die Wirkung der Boraxlösung war von der Borsäurewirkung nicht verschieden. Die Absterbezeiten und -folgen in Licht und Dunkel entsprachen denen der Borsäurepflanzen. Lediglich die Farbe der Boraxpflanzen wurde im Licht etwas langsamer hell als die der Borsäurepflanzen. Die Blattzähne waren im Licht widerstandsfähiger als die übrigen Randzellen, im Dunkeln dagegen nicht. Die Wandauswüchse traten auch hier nur im Licht auf.

c) Borax-Borsäure-Lösungen (p_H-Werte 6,8 bis 8,6): Die Wirkung der Borax-Borsäure-Gemische kann nicht als abweichend von den Einzelwirkungen der Borsäure und des Borax bezeichnet werden. Die Borpflanzen im Licht lebten 7—12 Tage, in Einzelfällen 14 Tage, im Dunkeln dagegen nur 2—4 Tage. In den Bor-Lichtblättern war neben den Blattzähnen auch eine kleine dreieckige Zone der Blattbasis auffallend widerstandsfähiger als das übrige Blattfeld. Wandauswüchse traten nur im Licht auf. Die Absterbefolgen gingen wie bei Borsäurebehandlung von der Spitze zur Basis und vom Rand zur Mittelrippe hin.

Zusammenfassend kann über die Wirkungen der mittleren Konzentrationen folgendes gesagt werden: Die Borwirkung ist lichtabhängig. Die Tötungszeit durch Borbehandlung in den genannten Konzentrationen beträgt im Licht 8—12 Tage, im Dunkeln dagegen nur 2—5 Tage. Im Licht geht die Absterbefolge von der Spitze zur Basis und von den Rändern zur Mittelrippe hin, wobei die Blattzähne besonders widerstandsfähig sind. Im Dunkeln sterben die Zellen im ganzen Blattfeld ziemlich gleichzeitig. Wandauswüchse werden nur im Licht gebildet.

3. Die Wirkung der schwachen Konzentrationen.

Die Versuchszeiten waren hier bedeutend länger: Die Borpflanzen im Licht lebten 6—8 Wochen und mehr, im Dunkeln 3—5 Wochen. Bedeutend war auch der Unterschied im Auftreten der pathologischen Symptome: In den Borpflanzen im Licht begann schon nach 3—5 Tagen der Chlorophyllabbau, und es wurden Wandauswüchse gebildet. Im Dunkeln aber blieben die Borpflanzen 14 Tage lang unverändert grün und erst nach 3 Wochen begann hier der Chlorophyllabbau sowie das Etiolement. Das Etiolement wurde im Vergleich zu den Wasserkontrollen, wo es schon nach 14 Tagen einsetzte, verzögert. Dann aber traten die Abbauprozesse um so heftiger auf, so daß die Lebensdauer gegenüber den Bor-Lichtpflanzen erheblich verkürzt war. Wandauswüchse wurden nur im Licht gebildet.

a) 0,01 proz. Borsäurelösung (p_H-Wert 6,0): In Licht und Dunkel waren die Pflanzen gegenüber dieser Kon-

zentration auffallend widerstandsfähig und es ließen sich länger als 8 Wochen die Wirkungen des Bors auf die Zellen verfolgen. Daß es sich hierbei um spezifisch durch Bor hervorgerufene Erscheinungen handelt, soll in den späteren Kapiteln erwiesen werden. Hier müssen wir uns auf die Wiedergabe der wichtigsten Beobachtungen beschränken.

Die Wasserkontrollen verhielten sich im Licht während der 8 Wochen und länger dauernden Versuche normal; Wand-Auswüchse traten nicht auf, auch nicht in geschädigten Blättern. Im Dunkeln begann, wie bereits erwähnt, nach 14 Tagen das Etiolement durch Verkleinerung der Plastiden und später durch Vergeilen der Sprosse bemerkbar zu werden. Die Tötungszeit der Borpflanzen betrug im Licht 8 Wochen und mehr, im Dunkeln dagegen nur 4—5 Wochen. Die pathologischen Symptome im Bor-Lichtblatt waren folgende: Die Protoplasmaströmung wurde zunächst beschleunigt und vom 3. bis 5. Tag an begann ein langsamer Abbau des Chlorophylls und der Plastiden, wodurch diese um ein Vielfaches kleiner und vom Plasma auf das Lebhafteste herumgetragen wurden. Ihre Farbe war bräunlichgelb. Die Zellen der Mittelrippe blieben bedeutend länger grün und wurden erst etwa nach 12 Tagen heller in der Farbe. Zum gleichen Zeitpunkt traten verteilt über das ganze Blattfeld hier und da nekrotische Zellen auf, ohne daß diese sich aber zu größeren Herden ausdehnten. Während die Plastiden noch ihre normale Größe hatten, begann schon die Bildung der zapfenförmigen Wandauswüchse. Vier Wochen lang blieb dieser Zustand ziemlich unverändert erhalten. Dann verwandelte sich häufig die bisherige Rotation des Protoplasmas in eine Zirkulation und das Plasma schien bedeutend flüssiger geworden zu sein. Das Zytoplasma war so dünn, daß es zwar die Plasmolyse immer noch ertrug, Deplasmolyse aber nur unter größten Vorsichtsmaßregeln noch möglich war. Dieser Zustand konnte sehr lange erhalten bleiben, doch wurden die Versuche selten auf mehr als 8 Wochen ausgedehnt. Im Bor-Dunkelblatt, das über 14 Tage lang unverändert grün blieb, traten diese Symptome kombiniert mit den Erscheinungen des Etiolements erst nach 3 Wochen auf, dann allerdings um so schneller und heftiger. Es wurde bereits erwähnt, daß die Lebensdauer des Bor-Dunkelblattes nur 4—5

Wochen betrug gegenüber 8 und mehr Wochen beim Bor-Lichtblatt. Wandauswüchse wurden beim Bor-Dunkelversuch niemals beobachtet. Da die Plastiden bei Borbehandlung im Dunkeln erst nach 3 Wochen kleiner wurden, bei den Wasserkontrollen im Dunkeln aber schon nach 14 Tagen, muß angenommen werden, daß das Bor das Etiolement etwas verzögern kann.

b) 0,02 proz. Boraxlösung (p_H-Wert 8,7): Tötungszeiten im Licht 3—6 Wochen, im Dunkeln 3—4 Wochen. Die Borax-Lichtpflanzen starben langsam ab, und zwar vom Rand zur Mittelrippe hin und von der Spitze zur Basis. In der dritten Woche war das obere Drittel des Blattes tot, in der vierten Woche die obere Blatthälfte und nach 6 Wochen lebte kaum mehr als ein kleines Dreieck an der Basis. Die Wandauswüchse wurden auch hier gebildet. Im Dunkeln konnte die Verzögerung des Etiolements nicht so deutlich beobachtet werden, wie dies bei den Dunkelversuchen mit Borsäure der Fall war, da die Wirkung des Borax von Anfang an sehr stark war.

c) Borax-Borsäure-Lösungen (p_H-Werte 6,9 bis 8,6): Die Wirkung dieser Lösungen entsprach im wesentlichen der Boraxwirkung. Tötungszeiten im Licht 3—6 Wochen, im Dunkeln 3—4 Wochen. Auch die Absterbefolge stimmte mit der für die Boraxkultur beschriebenen überein. Wandauswüchse wurden auch hier wieder nur im Licht gebildet. Auffallend war in diesen Kulturen das Auftreten von großen Stärkekörnern im Licht, die den Durchmesser der Plastiden auf das Zwei- bis Dreifache gegenüber den Wasserkontrollen erhöhten.

IV. Plasmolyseversuche.

Die folgenden Versuche dienten orientierenden Feststellungen über Permeationsfähigkeit des Bors und über Beeinflussung der Plasmaviskosität.

Zur Untersuchung der Permeabilität für Bor diente die von Hofmeister (1935) beschriebene Partialmethode. Diese ermöglicht Plasmolyseversuche mit Stoffen, die nicht bis zur Hypertonie löslich sind oder in hoher Konzentration schädigen. Als Unterlage wird Traubenzucker in einer Konzentration gewählt, derart, daß die plasmolysierten Protoplasten fünf bis sieben Zehntel des Zellraumes erfüllen. Nach ½ Std. ist das

Gleichgewicht eingetreten und es erfolgt die Überführung der Zellen in eine aus Traubenzucker in der vorigen Konzentration und dem zu prüfenden Stoff kombinierte Lösung. Die Protoplasten verkürzen sich, da die kombinierte Lösung höhere Konzentration hat als die Zuckerlösung. Dringt nun der zu untersuchende Stoff ein, so erfolgt Wiederausdehnung des Protoplasten. Bei Konzentrationsgleichheit zeigen die Protoplasten wieder den Plasmolysegrad der reinen Traubenzuckerlösung.

In unseren Versuchen wurden die Blätter in einer 0,7 mol Traubenzuckerlösung plasmolysiert. Nach Eintritt des Gleichgewichts wurden sie in eine kombinierte Lösung von 0,7 mol Traubenzucker und 0,4 mol Borsäure von der Gesamtkonzentrationshöhe 1,1 mol übertragen. Die Protoplasten zogen sich plötzlich stark zusammen, um sich ziemlich schnell auf die vorherige Größe wieder auszudehnen und über 1 Std. darin zu verharren, ein Zeichen dafür, daß die Borsäure leicht das Protoplasma durchdringt. Die Zellen waren nach dem Versuch deplasmolysierbar und wieder normal plasmolysierbar. Veränderung der Plasmolyseform als Borsäurewirkung konnte nicht festgestellt werden, wie sich aus Versuchen mit einer 1,1 mol Traubenzuckerlösung ohne Borsäure ergab, d. h. mit einer der Zucker-Borsäure-Lösung annähernd isotonischen Lösung. Dies konnte auch schwerlich erwartet werden, da der Protoplast die konvexe Plasmolyseform zeigte.

Zur Feststellung von Viskositätsänderungen durch Bor wurde die Plasmolyseform- und -zeitmethode nach Weber (1924, 1928) zur Anwendung gebracht. Unter Plasmolysezeit wird diejenige Zeitdauer verstanden, die vom Einlegen des Objektes in das Plasmolytikum bis zur Erreichung der Konvexform verstreicht.

Wurden frische Blätter sofort in die kombinierte Lösung von 0,7 mol Traubenzucker und 0,4 mol Borsäure eingelegt, so ergaben sich weder Unterschiede in der Plasmolyseform, noch in der Zeit gegenüber den in der entsprechenden 1,1 mol Traubenzuckerlösung ohne Bor liegenden Kontrollen. Wurden jedoch Blätter mit 1,25proz. Borsäurelösung bis zu 5 Std. vorbehandelt und dann in verschiedenen Plasmolytika geprüft, so ergab sich eine deutliche Erniedrigung der Viskosität: in Traubenzucker (0,7 mol), Kaliumchlorid (0,5 und 1,0 mol) und Harnstoff (1,0 mol)

waren die Plasmolysezeiten doppelt und vereinzelt auch dreimal kürzer als bei den nicht mit Bor vorbehandelten Blättern (Tab. 1). Das Haftvermögen der Plasmagrenzschichten an der Membran war bei den mit Bor vorbehandelten verringert gegenüber den Kontrollen. Ebenso ging die konkave Plasmolyseform schneller in die konvexe über. Das gleiche wurde auch nach Vorbehandlung mit 0,01proz. Borsäurelösung nach einer Versuchszeit von 3 Wochen festgestellt. Das Zytoplasma war flüssiger geworden und die Protoplasten nahmen rascher die konvexe Plasmolyseform an.

Tabelle 1.

Plasmolysezeitversuche

(Durchschnittswerte von je 10 Versuchen in Minuten).

Plasmolytikum	Kontrollen		Borblätter	
	Licht	Dunkel	Licht	Dunkel
			Vorbehandelt 5 Std. in 1,25proz. Borsäurelösung	
0,5 mol KCl. . . .	30	—	15	—
	35	—	20	—
	30	—	15	—
1,0 mol KCl . . .	80—90	—	45—60	—
	70—85	—	40—60	—
	70—90	—	45—65	—
1,0 mol Harnstoff .	50—60	—	20—30	—
	55—70	—	30—40	—
	50—75	—	20—35	—
			Vorbehandelt 3 Wochen in 0,01proz. Borsäurelösung	
0,5 mol KCl. . . .	40—50	30—40	20—25	35—40
	45—60	30—40	20—30	35—40
1,0 mol KCl. . . .	80—95	35—50	45—60	60—70
	75—90	40—50	45—60	55—70

Auch hier war eine Mitwirkung des Lichts festzustellen: Bei dreiwöchiger Vorbehandlung mit 0,01 % Borsäure trat die Viskositätsverminderung nur im Licht ein. Im Dunkeln war sogar eine leichte Viskositätserhöhung durch die Borsäure eingetreten.

V. Die Wirkung der schwachen Borsäurelösung auf die Plastiden in Licht und Dunkel.

Eine besondere Beachtung verdiente die schon betonte Lichtabhängigkeit der Borwirkung. Die Wirkung des Bors auf die

Plastiden wurde bei künstlichem Licht und im Dunkeln untersucht und mit dem Verhalten der Plastiden in Kulturen ohne Borzugabe verglichen. Die Intensität der künstlichen Belichtung war, wie Messungen mittels der Photozelle ergaben, etwas geringer als die durchschnittliche des Tageslichts am Nordfenster. Durch die dauernde Beleuchtung wurde zwar der Tag- und Nachtrhythmus gestört. Da sich aber die Erscheinungen bei Tageslicht und bei künstlichem Licht im Prinzip in keiner Weise unterschieden, vielmehr bei Tageslichtkultur nur bedeutend längere Versuchszeiten erforderlich waren, wurde der größte Teil der Versuche bei künstlichem Licht ausgeführt, was außerdem den Vorteil einer konstanten Beleuchtungsintensität bot.

Die Wasserkontrollen im Licht zeigten während der ganzen Versuchszeit normale Verhältnisse: Die Chloroplasten waren in den Zellen gleichmäßig verteilt. Stärkekörner waren hin und wieder zu erkennen, auch die Grana zeichneten sich schwach ab (Abb. 1). Bei den Kontrollen im Dunkeln begann nach einiger Zeit ein Hellerwerden der Plastiden bemerkbar zu werden und damit verbunden eine deutliche Abnahme ihres Durchmessers. Die grüne Färbung wurde heller, die Form kantiger. Die Sichtbarkeit der Grana war nicht wesentlich besser als beim entsprechenden Lichtblatt (Abb. 2). Ganz anders war nun das Verhalten der Zellen in 0,01proz. Borsäurelösung: Die Lichtblätter reagierten zunächst durch eine verstärkte Protoplasmaströmung, die die Plastiden immer lebhafter herumtrug. Der Chlorophyllgehalt der Plastiden wurde immer geringer, bis diese schließlich grüngelb bis gelb waren, was darauf hindeutete, daß die Karotinoide erhalten blieben. Auch die Stärke wurde bis auf geringe Reste abgebaut. Durch diese Vorgänge schrumpften die Plastiden auf ein Drittel ihres normalen Durchmessers zusammen und bekamen eine kantige Form. Grana wurden als dunkle Punkte ganz deutlich sichtbar. Die Abb. 3, 6 und 7 mögen einen Begriff von den Verhältnissen geben; es sind Mikrophotos bei 1200facher Vergrößerung. Wegen der Kleinheit der Grana war es nicht möglich, ihren Durchmesser vergleichend zu bestimmen. Genau so wenig war es angängig, die Zahl der Grana in den Plastiden festzustellen und zu Vergleichen der borbehandelten mit den Plastiden der Kontrollen heranzuziehen.

Im Prinzip die gleichen Vorgänge spielten sich bei der 0,01proz. Borsäurekultur im Dunkeln ab. Die Abbauprozesse setzten aber bedeutend später ein als beim borbehandelten Lichtblatt, worin sich die Lichtabhängigkeit dieser Wirkungen deutlich offenbarte. Verglich man andererseits die borbehandelten Dunkelblätter mit den Kontrollen, die im Dunkeln gehalten wurden, so ließ sich regelmäßig feststellen, daß die borbehandelten länger normal blieben als die Kontrollen. Das Bordunkelblatt behielt noch viele Tage sein normales Aussehen, wenn im Dunkelkontrollblatt schon die als Etiolement bezeichneten Vorgänge auftraten. Dann allerdings wurde es von den bei Borbehandlung auch im Licht zu beobachtenden Abbauerscheinungen so heftig ergriffen, daß das Absterben im Dunkeln bedeutend rascher als im Licht erfolgt, wie dies weiter oben schon beschrieben wurde. Die Abb. 1 bis 4 geben einen Querschnitt durch einen Versuch und zeigen deutlich den Unterschied im Zustand der Plastiden in Licht und Dunkelkultur mit und ohne Bor nach 12 Tagen. Die durchschnittlichen Plastidengrößen waren: Licht ohne Bor 5 μ, Licht mit Bor 1,7 μ, Dunkel ohne Bor 3,4 μ, Dunkel mit Bor 4,2 μ.

VI. Der Einfluß des Bors auf die Assimilationsleistung.

Zur Klärung dieser Frage wurde eine Reihe von Assimilationsbestimmungen mit der manometrischen Methode nach Warburg gemacht. Diese Bestimmungen sollten von vornherein nur orientierender Natur sein; denn es war klar, daß erschöpfendes Zahlenmaterial nur aus einer sehr großen Anzahl von Versuchen zu gewinnen war, was nicht im Rahmen dieser Arbeit lag.

Zunächst wurden Versuche durchgeführt zur Feststellung einer Momentanwirkung des Bors auf die Assimilation im Sinne einer plötzlichen Hemmung. Jedes Versuchsgefäß enthielt 50 Blättchen in 5 ccm Wasser. In den Ansätzen befanden sich je 0,2 ccm Borsäurelösung, deren Konzentrationshöhe so bemessen war, daß die Konzentration der Lösung im Versuchsgefäß nach Zugabe der in den Ansätzen befindlichen Lösung gerade den im obigen mit »stark«, »mittel« und »schwach« bezeichneten Konzentrationen entsprach. Nachdem einige Stunden die normale Assimilation gemessen worden war, wurden die Bor-

lösungen in die Versuchsgefäße hineingekippt und die Assimilation weiter messend verfolgt.

Die Versuche ergaben eindeutig[1], daß Zugabe von Bor auch in sehr starken Konzentrationen weder unmittelbar, noch im Verlauf der nächsten 24 Std. eine Hemmung der Assimilationsleistung bei Helodea normaler Anzucht hervorrief. Waren dagegen die Blätter 6 Tage in der 0,12proz. Borsäurelösung vorkultiviert worden, so war im Anschluß daran in den noch lebenden Blättern keine Assimilationsleistung mehr zu verzeichnen. Am aufschlußreichsten waren die Assimilationsbestimmungen nach 14tägiger Vorbehandlung in 0,01proz. Borsäurelösung. Die Ergebnisse entsprachen dem mikroskopischen Bild. Die Assimilation der Wasserkontrollen, die im Licht kultiviert waren, war wesentlich stärker, die der im Dunkeln vorkultivierten Wasserkontrollen sehr gering. Auch hier fanden wir den Licht-Dunkel-Gegensatz: Im Licht mindert Borbehandlung die Assimilationsfähigkeit im Vergleich zu den unbehandelten Wasserkontrollen, im Dunkeln bleibt die Assimilationsfähigkeit bei den borbehandelten etwas länger erhalten als bei den unbehandelten Wasserkontrollen (Verzögerung des Etiolements).

Im folgenden wird ein Versuchsprotokoll wiedergegeben, aus dem die beschriebenen Unterschiede zu entnehmen sind. Der Einfachheit halber werden als Maß für die Assimilationsleistung nur die Druckzunahmen in Millimeter nach Einrechnung der jeweiligen Gefäßkonstanten und die Mittelwerte von je drei Parallelbestimmungen, bezogen auf die Trockengewichte, wiedergegeben.

Bei den Versuchen konnte immer wieder beobachtet werden, daß die Stengel der Helodea bei Borkultur im Licht grün blieben, während die Blätter schon längst eine gelbe Farbe zeigten. Die mikroskopische Untersuchung von Stengelschnitten zeigte, daß die Plastiden noch ganz normal waren und sich in keiner Weise von den Plastiden im Stengel der Kontrollpflanzen unterschieden. Um festzustellen, ob die Stengel noch assimilierten, wurde eine Kultur mit 0,12proz. Borsäure so lange durchgeführt, bis die Blätter alle tot waren. Die noch grünen Stengel wurden nun in kleine Teilstückchen zerschnitten und auf ihre Assimilations-

[1]) Im Gegensatz zu Bukatsch (Planta. 1938. **28**, 264).

Tabelle 2.

Nr. 74. Kultiviert in 0,01proz. Borsäurelösung vom 11.—25. April 1938. Assimilationsbestimmung am 25. April 1938. — 5 ccm Anzuchtlösung und 50 Blatt pro Gefäß. Inhalt der Gefäße: 1—3: Bor Lichtkultur, 4—6: Kontrollen Lichtkultur 8—10: Bor Dunkelkultur, 11—13 Kontrollen Dunkelkultur. Vor Versuch Luft mit 5% CO_2 eingeleitet. I: Druckunterschiede in Millimeter Brodie unter Einrechnung der Gefäßkonstanten. II: Mittelwerte aus I. III: Mittelwerte, bezogen auf 1 mg Trockengewicht. Die Trockengewichte betrugen für 1.—3.: 0,028 g, 4.—6.: 0,030 g, 8.—10.: 0,022 g, 11.—13.: 0,025 g.

		16.00 bis 16.30 Uhr	bis 17.00 Uhr	bis 17.30 Uhr	bis 18.00 Uhr	bis 18.30 Uhr
I.	1.	+ 1,85	+ 1,85	+ 1,32	+ 0,97	+ 1,06
Licht	2.	+ 1,58	+ 1,50	+ 1,32	+ 0,88	+ 0,70
+ Bor	3.	+ 2,08	+ 1,73	+ 1,38	+ 1,04	+ 1,04
	4.	+ 2,82	+ 2,82	+ 2,09	+ 1,91	+ 2,18
Licht	5.	+ 3,11	+ 3,19	+ 2,35	+ 1,93	+ 2,01
	6.	+ 3,57	+ 3,02	+ 2,74	+ 1,74	+ 2,01
	8.	+ 1,35	+ 1,62	+ 1,17	+ 0,81	+ 1,17
Dunkel	9.	+ 1,21	+ 1,39	+ 1,02	+ 0,74	+ 0,84
+ Bor	10.	+ 1,86	+ 1,77	+ 1,44	+ 0,93	+ 1,10
	11.	— 1,43	— 0,36	+ 0,09	+ 0,18	+ 0,18
Dunkel	12.	— 0,93	+ 0,25	+ 0,42	+ 0,17	+ 0,34
	13.	— 1,40	+ 0,18	+ 0,08	+ 0,18	+ 0,18
II.	1.— 3.	+ 1,84	+ 1,69	+ 1,34	+ 0,96	+ 0,93
	4.— 6.	+ 3,16	+ 3,01	+ 2,39	+ 1,86	+ 2,07
	8.—10.	+ 1,47	+ 1,59	+ 1,21	+ 0,83	+ 1,04
	11.—13.	— 1,25	+ 0,02	+ 0,20	+ 0,18	+ 0,23
III.	1.— 3.	+ 6,50	+ 6,00	+ 4,70	+ 3,40	+ 3,30
	4.— 6.	+ 10,50	+ 10,00	+ 8,00	+ 6,20	+ 6,90
	8.—10.	+ 6,60	+ 7,20	+ 5,50	+ 3,70	+ 4,70
	11.—13.	— 6,20	+ 0,08	+ 0,80	+ 0,70	+ 0,90

leistung geprüft. Dabei zeigten sie genau die gleiche Assimilationsfähigkeit wie die Kontrollstengel. Dies deutet wohl darauf hin, daß das Bor sehr schwer in die Stengelzellen eindringen kann.

Im Anschluß an die Assimilationsmessungen wurden auch einige Atmungsbestimmungen gemacht. Dabei konnten aber keine auffallenden Feststellungen gemacht werden. Unter der Voraussetzung, daß der Atmungsquotient den Wert 1 beibehält, ergibt sich aus den Werten der Druckabnahme nur die Tatsache, daß die Atmung mit zunehmender Schädigung der Blätter ansteigt.

VII. Die Auswüchse der Zellwand.

Es wurde schon erwähnt, daß in Borkultur bei Tages- oder künstlichem Licht die Zellwände merkwürdige zapfenförmige Körper ausbildeten, die in das Zellinnere hineinragten. Auffallend waren die mannigfachen Formveränderungen, die sie durchmachten, und es lag nahe, an degenerierende Kerne zu denken, die durch Quellung immer größer würden und schließlich auch in mehrere Teile zerfallen könnten. Abgesehen von diesen Körpern war nämlich in den Zellen kein Gebilde zu entdecken, das als Kern hätte angesprochen werden können. In borbehandelten Dunkelblättern dagegen, die diese Körper nicht ausbildeten, waren die Kerne immer sehr gut zu erkennen.

Zur Durchführung von Mikroreaktionen wurden die Blätter in Fixiergemisch nach Bouin-Clélan d oder in 80proz. Alkohol fixiert. In der Literatur ist darauf hingewiesen worden, daß die Feulgensche Nuklealreaktion bei Helodea nicht immer glückt. Es ist uns aber nach Überwindung der ersten Schwierigkeiten gelungen, die Kernsubstanz mittels der Feulgen-Reaktion immer wieder neben den eigenartigen Körpern nachzuweisen, wobei gelegentlich auch Fälle vorkamen, in denen der Kern getrennt von diesen Körpern an einer anderen Stelle lag. Meistens aber lag er diesen Gebilden sichelförmig an und konnte daher in ungefärbtem Zustande kaum davon unterschieden werden. Da der Kern aber fast immer eng mit diesen Körpern verbunden war, kann man annehmen, daß er mit der Entstehung der Gebilde irgendwie zusammenhängt (s. aber S. 263).

Mikrochemische Reaktionen klärten die Natur dieser Gebilde: Selbst in kochendem Chloroform lösten sie sich nicht. Färbung mit Sudan III und Scharlachrot fiel negativ aus. Es waren also keine Fette und Lipoide oder Wachs- bzw. cutinartige Stoffe vorhanden. Auch die Xanthoproteinreaktion sowie Millons Reaktion auf Eiweißkörper fielen negativ aus. So wurde es wahrscheinlich, daß diese Gebilde aus der Wand hervorgingen. Sie waren nicht doppelbrechend, in Kupferoxydammoniak auch bei tagelanger Behandlung mit oft erneuerter Lösung waren sie unlöslich, ebenso in warmen unverdünnten Mineralsäuren. Nach dem Ausfall der Löslichkeitsreaktionen kamen von den Bau-

stoffen der Zellwand Zellulose und Hemizellulosen als Grundsubstanz nicht in Frage, da beide in Kupferoxydammoniak löslich sind. Auch die Chlorzinkjodreaktion fiel negativ aus. So blieb die Möglichkeit offen, daß es sich um Pektinstoffe oder Cutin handeln könnte. Es wurde außerdem noch Sudan gelöst in Amylenhydrat-Pyridin nach C z a p e k angewandt, ohne daß eine positive Reaktion damit zu erzielen war. Mit Methylenblau färbten sich die Körper intensiv blau, eine — natürlich ganz unspezifische — Reaktion auf Pektinstoffe. Schließlich wies aber die immer wieder erhaltene intensive Rotfärbung mit Rutheniumrot (G r ü b l e r) darauf hin, daß diese Körper vor allem aus Pektinen bestanden. Die Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak und die Rotfärbung mit Rutheniumrot sind leider die einzigen einigermaßen verläßlichen Reaktionen auf Pektine, eine vollkommen spezifische Reaktion kennt man bis heute noch nicht. Es ist nicht ausgeschlossen, daß die beschriebenen Körper nicht von einheitlicher Natur sind, sondern auch Zellulose enthalten. Lange Behandlung mit Kupferoxydammoniak bewirkt jedoch keine Formveränderung der Gebilde, was auf Überwiegen des Pektingehalts hinweist.

Wir haben nun versucht, morphologisch die Entwicklung dieser Wandauswüchse an der lebenden Zelle zu verfolgen: Die Wandauswüchse können an den periklinen und antiklinen Wänden gebildet werden. In einer einzigen Zelle können mehrere solcher Gebilde entstehen. An einer Stelle der Zellwand bildet sich langsam eine zunächst ziemlich unscheinbare Verdickung aus, die kaum die Plastiden an Größe übertrifft (Abb. 5). Diese Verdickung wächst sich nach den Seiten und dann auch in das Zellinnere hinein aus bis zu großen Pfropfen und Zapfen sehr mannigfacher Form, die das Zellumen manchmal bis zur Hälfte ausfüllen (Abb. 3 und 5—9). Von der Regelmäßigkeit, mit der diese Körper in allen Zellen ausgebildet werden, geben unsere Übersichtsbilder bei 400facher Vergrößerung einen Begriff (Abb. 10 und 11). Mittels der F e u l g e n schen Nuklealreaktion wurde immer wieder festgestellt, daß die Zellkerne diesen Membranauswüchsen sichelförmig anliegen. Es kann, wie schon erwähnt, vermutet werden, daß der Zellkern an der Ausbildung dieser Körper irgendwie beteiligt ist.

VIII. Die Borspezifität der Zapfenbildung.

Es war noch der Beweis zu erbringen, daß die im vorigen Kapitel beschriebenen Wandauswüchse spezifisch durch Einwirkung von Bor hervorgerufen werden. Drei Möglichkeiten waren dabei zu berücksichtigen: 1. Handelt es sich nicht um eine Wirkung, die von der Wasserstoffionenkonzentration abhängig ist? 2. Lassen sich durch Nährsalzmangel die gleichen Erscheinungen hervorrufen? 3. Gibt es andere Stoffe als Bor, die die gleiche Wirkung haben?

In unseren Borsäurekulturen lag der p_H-Wert immer unter 7. Jedoch konnte eindeutig, wie schon früher erwähnt, durch Anwendung phosphatgepufferter Lösungen sowie stark alkalischer Boraxlösungen gezeigt werden, daß die Bildung der Wandauswüchse nicht vom p_H-Wert abhängt.

Zur Klärung der zweiten Frage wurden borfreie Nährsalzmangelkulturen angesetzt. Nach den Angaben von Kalchhofer wurde die von der Crone-Merkenschlagerschen Nährlösung in vier Modifikationen hergestellt:

1. Kalziumfreie Lösung.

KNO_3	1,00 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,25 g
$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,70 g
K_2SO_4	0,40 g
Wasser	1000 ccm

2. Stickstofffreie Lösung.

$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,50 g
K_2SO_4	0,50 g
$CaSO_4 + 2\,H_2O$	0,50 g
$Ca_3(PO_4)_2$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,25 g
Wasser	1000 ccm

3. Phosphorfreie Lösung.

KNO_3	1,00 g
$CaCl_2 + 6\,H_2O$	0,25 g
$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,50 g
$CaSO_4 + 2\,H_2O$	0,50 g
$FeSO_4 + 7\,H_2O$	0,04 g
Wasser	1000 ccm

4. Kaliumfreie Lösung.

$NaNO_3$	1,00 g
$Ca_3(PO_4)_2$	0,25 g
$Fe_3(PO_4)_2$	0,25 g
$MgSO_4 + 7\,H_2O$	0,50 g
$CaSO_4 + 2\,H_2O$	0,50 g
Wasser	1000 ccm

In diesen Nährlösungen kultiviert zeigten die Pflanzen nach kurzer Zeit die von Kalchhofer eingehend beschriebenen Krankheitserscheinungen. Wir konnten uns dabei überzeugen, daß in keinem Falle die bei Borbehandlung auftretenden Wandauswüchse entstanden. Wurde aber diesen Nährlösungen Bor zugeführt, so kam es im Licht alsbald zur Entstehung der Zapfen an

den Zellwänden. Es konnte damit bewiesen werden, daß Helodea canadensis auch unter schwersten Mangelerscheinungen nicht auf die gleiche Weise reagiert wie unter dem Einfluß der Borbehandlung, und daß andererseits auch in Mangelkulturen die Helodea-Blattzellen auf Borzusatz mit Zapfenbildung reagierten.

Ebensowenig vermochte Kultur der Pflanzen in Einsalzlösungen die für Bor charakteristischen Zustände auszulösen. In Kalziumchlorid- und Kalziumnitratlösungen reagierten die Zellen um die Mittelrippe herum mit beträchtlicher Ansammlung von Stärke, deren Abbau durch Borzugabe eingeleitet werden konnte.

Da in der Literatur verschiedentlich von Beziehungen des Bors zur Kalziumaufnahme gesprochen wird, soll noch erwähnt werden, daß Borzugabe (0,01proz. Borsäure) zu den kalziumfreien Kulturen bei unseren Versuchen immer die Widerstandsfähigkeit steigerte: In kalziumfreien und borfreien Kulturen starben die Pflanzen durchschnittlich 5 Tage früher als in kalziumfreien Kulturen mit Borzusatz. Da die mit Bor versetzten Mangelkulturen jedoch ebenfalls eine begrenzte Lebensdauer hatten, ist in Bestätigung der Befunde anderer, das Bor nicht in der Lage, die fehlenden Elemente zu ersetzen.

Zur Klärung der Frage, ob andere Stoffe in ähnlicher Weise wie Bor auf die Zellwand wirkten, wurden Versuche mit vielen Säuren und Salzen angestellt. Von den Säuren wurden verwandt: Salzsäure, Schwefelsäure, Salpetersäure, Phosphorsäure und Essigsäure. Von Salzen: Kaliumchlorid und -nitrat, Natriumchlorid und -karbonat, Magnesiumsulfat, Kalziumchlorid und -nitrat, Kalium-Aluminium-Alaun und Aluminiumchlorid, Manganchlorür, Kobaltnitrat, Nickelsulfat, Kupfersulfat, Zinksulfat, Zinnchlorür, Bleiazetat und Lithiumchlorid. Mit keinem der vorgenannten Stoffe ließen sich die Wandbildungen auslösen, so daß man annehmen muß, daß das Bor spezifisch in dieser Richtung auf die Zellwand von Helodea wirkt. Allgemein kann man diese Fähigkeit dem Bor nicht zuschreiben. Schon in den viel zarteren Wurzelzellen der Helodea sind Membranverdickungen nicht zu beobachten gewesen. Ebensowenig war dies der Fall in den Wurzelhaaren von Triticum vulgare, Trianea bogotensis, Lemna trisulca, ferner in den Blattzellen von Salvinia und Fontinalis.

IX. Bormangelversuche.

Bisher wurde nur von Versuchen berichtet, bei denen das Bor in Mengenverhältnissen gegeben wurde, wie sie in der Natur niemals der Pflanze geboten werden. Zugleich mußten wir uns aber fragen, ob für Helodea canadensis Bor ein lebenswichtiges Spurenelement darstellt. Es wurden Erlenmeyerkolben aus Quarz benutzt, in denen die Helodea-Sprosse über ein halbes Jahr lang kultiviert wurden. Als Wasser kam nur über Quarz destilliertes zur Verwendung, als Grundnährlösung die Knopsche, hergestellt aus reinsten umkristallisierten Salzen. Zugleich wurden Sprosse in dieser Nährlösung unter Zusatz von Hoaglands A-Z-Lösung mit bzw. ohne Bor kultiviert.

Durch das Fehlen von Bor entstandene Mangelerscheinungen konnten nicht beobachtet werden, so daß es wahrscheinlich ist, daß Helodea canadensis auf Bor nicht angewiesen ist. Es muß allerdings dahingestellt bleiben, ob ein etwaiger Borgehalt, den die Pflanze aus ihrer früheren Umgebung mitbrachte, ihren Bedarf an diesem Element während der Versuchszeit zu decken vermochte.

Immerhin war es interessant, festzustellen, welche Mengen Bor genügten, um zum Beispiel die Wandauswüchse hervorzurufen. Durch Versuche mit Konzentrationsreihen von 500 mg bis herab zu 0,0005 mg Borsäure pro Liter in Quarzgefäßen konnte festgestellt werden, daß schon bei 0,005 mg pro Liter die Wirkung beginnt und im Prinzip bei allen höheren Konzentrationen genau die gleiche ist, wenn sie dort auch entsprechend stärker und heftiger auftritt. Vielleicht besteht eine Beziehung zwischen der Borentbehrlichkeit und der pathologischen Wirksamkeit kleinster Mengen.

X. Besprechung der Ergebnisse.

Im Mittelpunkt der Untersuchung steht die Widerstandsfähigkeit der Helodea gegenüber Bor und die starke Lichtabhängigkeit ihres Verhaltens bei Borbehandlung. Die Differenz in den Tötungszeiten zwischen Licht- und Dunkelkultur war außerordentlich groß: in den mittleren Konzentrationen (ca. 0,1% Bor) starben die Blätter im Licht nach 8—12 Tagen,

im Dunkeln aber schon nach 2—5 Tagen; in den schwachen Konzentrationen (ca. 0,01% Bor) betrug die Tötungszeit im Licht 6—8 Wochen und mehr, im Dunkeln dagegen nur 3—5 Wochen. Weiter spricht für die Lichtabhängigkeit der Borwirkung die ausschließlich im Licht, niemals aber im Dunkeln erfolgende Bildung von Wandauswüchsen. In sehr klarer Weise zeigt sich in weiteren Symptomen das verschiedene Verhalten der Helodea in Kulturen mit und ohne Bor jeweils in Licht und Dunkel, wenn man zu einer gewissen Zeit den Zustand der Plastiden untersucht. Ein Beispiel dafür geben unsere Abb. 1—4. Innerhalb von 12 Versuchstagen verkleinerte sich die Durchschnittsgröße der Plastiden von 5 μ im Licht ohne Bor auf 1,7 μ im Licht mit Bor (Abb. 1 u. 2). In der gleichen Zeit nahm aber die Plastidengröße, die zu Versuchsbeginn 5 μ betragen hatte, im Dunkeln ohne Bor mehr ab als mit Bor, nämlich von ursprünglich 5 μ verkleinerte sie sich auf 3,4 μ in Dunkelkultur ohne Bor, und nur auf 4,2 μ in Dunkelkultur mit Borzusatz (Abb. 3 u. 4). Mit anderen Worten: Im Licht begann bei Borkultur nach 3—5 Tagen schon der Abbau des Chlorophylls und die Verkleinerung der Plastiden, im Dunkeln aber traten diese Erscheinungen erst nach 3 Wochen, dann allerdings um so heftiger ein. Das heißt: Borkultur verzögert im Dunkeln das Etiolement. Trotz des viel späteren Einsetzens der Abbauerscheinungen im Bor-Dunkelblatt ist, wie schon erwähnt, seine Gesamtlebensdauer im Vergleich zum Bor-Lichtblatt aber verkürzt. Diese Unterschiede spiegeln sich auch in der Assimilationsleistung der Blätter eines solchen Versuchs wider. Die Assimilation der Bor-Dunkelblätter war bedeutend größer als die der Kontrollblätter im Dunkeln, also eine Bestätigung der Etiolementverzögerung durch Bor. Schließlich wurde auch die Plasmaviskosität bei Borbehandlung im Licht früher erniedrigt als im Dunkeln. Auf eine solche Viskositätserniedrigung deutete neben der erhöhten Plasmaströmung bei längeren Versuchszeiten auch die zunehmende Verflüssigung des Plasmas und die Verringerung seines Haftvermögens an der Zellwand bei Plasmolyse hin. Eine Erklärung für diese auffallenden Erscheinungen kann zur Zeit nicht gegeben werden.

Ohne näher auf die neuerdings wieder lebhaft erörterte Frage

der Grana im Chloroplasten eingehen zu wollen [vgl. das Sammelreferat von Frey-Wyssling (1938)], muß betont werden, daß unsere Beobachtungen über die durch Borbehandlung hervorgerufenen Veränderungen der Plastiden eine Abhängigkeit der mikroskopisch sichtbaren Strukturen der Grana vom physiologischen Allgemeinbefinden der Pflanze erkennen lassen, worauf ja auch Strugger (1937) hingewiesen hat. Aus den Abbildungen ist ein Deutlicherwerden der Grana in Borkultur ohne weiteres ersichtlich.

Schmucker nahm eine Wirkung der Borsäure auf die Membranbildung an. Es wäre möglich, daß die von ihm mitgeteilten Symptome mit den hier beschriebenen Wandanomalien in irgendeinem Zusammenhang stehen. Wir müssen diese Gebilde natürlich als pathologische Erscheinungen bezeichnen. Degenerative Membranverdickungen sind für verschiedene Objekte schon beschrieben worden [Küster (1935)], ohne daß die unmittelbaren Ursachen dazu ermittelt werden konnten. Dies gilt auch für die hier besonders zu erwähnenden, aus der Wandinnenseite der Saprolegnia-Hyphen hervorgehenden Bildungen, die aus Pectin und Kallose bestehen [Guilliermond und Hurel-Py (1938)] und in ihren Anfangsstadien Zapfenform besitzen, um weiterhin allerdings die gesamte Zelle zu durchsetzen. In vorliegendem Fall gelang es, mit Bor bei Lichtgegenwart die Membranverdickungen auszulösen. Erwähnt soll noch werden, daß der Zellkern sich fast immer eng an die Wandauswüchse anlegte, was auf seine Beteiligung an der Ausbildung der Zapfen hinweisen könnte. Küster warnt aber, aus der Lage des Kerns auf die Funktion zu schließen, und schreibt, »weder der Schluß, daß die Lage des Kerns eine Voraussetzung lokalen Membranwachstums sei, noch daß durch Annäherung des Kerns an bestimmte Wandareale deren Verdickung gefördert würde«, sei erlaubt.

Was nun die Deutungsversuche solcher pathologischer Erscheinungen anbelangt, so meint auch hier Küster (1925), »daß wir keiner Klasse der pathologischen Gewebeformen gegenüber Veranlassung haben, in ihrer Bildung allgemein den Ausdruck der Fähigkeit der Pflanze zu sehen, auf veränderte Bedingungen zweckmäßig zu reagieren« und »kein Grund vorliegt,

die Unmöglichkeit für viele pathologische Gewebeformen eine plausible ökologische Deutung zu finden, mit unserer noch unvollkommenen Einsicht in die Physiologie der abnormen Zellen und Gewebe zu erklären«. Am ehesten kommen wir vielleicht zu einem Verständnis der Vorgänge, wenn wir von der überwiegenden Pektinnatur der Wandzapfen ausgehen. Über die Rolle der Pektinstoffe im pflanzlichen Organismus ist kaum etwas bekannt geworden. Vöchting (1908) fand an Kohlrabi kleine Auswüchse auf der Außenseite der Zellwand und im Bereich der Interzellularen sowie an Elementen der Rinde und collenchymatisch verdickten Wänden, die meist kugelförmig oder ellipsoid waren und den Zellwänden mit schmaler Basis oder einem Stiel aufsaßen. Auf Grund des mikrochemischen Verhaltens nahm er an, daß es sich um Pektinverbindungen handelte, deren Bedeutung er sich auch nicht erklären konnte. Odén (1916) fand, daß saure Pektinsubstanzen sehr wenig in Wasser löslich sind, aber geneigt, gelatinöse Kolloide zu bilden. Sie sind in pflanzlichen Membranen allgemein verbreitet, zum Teil als Kalksalze. Er glaubt, daß Pektinsubstanzen als Regulator für den H'- und OH'-Gehalt der in der Pflanze zirkulierenden Lösungen von Bedeutung sind, soweit diese damit in Berührung kommen. Die in unseren Versuchen festgestellte Wirkung des Bors auf die Wandsubstanz und die durch Borkultur hervorgerufene Verkleinerung der Chloroplasten, verbunden mit einem Absinken der Assimilationsleistung, erwecken den Eindruck, daß das Bor in irgendeiner Weise auf den Kohlenhydratstoffwechsel einwirkt. In diesem Zusammenhang mag es interessieren, daß das Bor mit Kohlenhydraten Verbindungen eingehen kann, worauf ja auch schon Schmucker hingewiesen hat. In welcher Weise das Bor auf den Pektinstoffwechsel und die Zapfenbildung einwirkt, kann jedenfalls noch nicht erklärt werden.

Die vorliegende Arbeit wurde auf Anregung von Herrn Professor Dr. Kurt Noack ausgeführt, der mir Mittel der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Verfügung gestellt hat. Für die tatkräftige Förderung bei der Durchführung der Arbeit danke ich ihm aufrichtig. Ebenso gilt mein Dank Herrn Dr.

Pirson und Herrn Dr. Menke, den Assistenten des Instituts, für ihre wertvolle Unterstützung.

Berlin-Dahlem, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität Berlin, im November 1938.

Zusammenfassung.

Die Borwirkung sollte nach der zellphysiologischen Seite mit verhältnismäßig großen Dosen geprüft werden. Hierzu ist Helodea canadensis geeignet, die eine hohe Widerstandsfähigkeit gegen Bor zeigt, und zwar gegen Borsäure, Borax und Gemische aus beiden. Starke Dosen bewirken ein Absterben von der Spitze zur Basis und von den Rändern zur Mittelrippe hin.

Plasmolyseversuche ergaben, daß Bor leicht in die lebende Zelle eindringt.

Die Borwirkung erwies sich in hohem Grade als lichtabhängig, wie sich aus Bestimmung der Toxizität im allgemeinen, aus Änderungen der Viskosität, der Plastidenstruktur, des Assimilationsgaswechsels wie auch aus dem Auftreten von Wandauswüchsen ergab.

Toxizität: 0,1proz. Borsäure- oder 0,2proz. Boraxlösung z. B. wie auch Gemische beider Lösungen wirkten im Licht nach 8—12 Tagen, im Dunkeln nach 2—5 Tagen tödlich. In den 10mal geringeren Konzentrationen trat der Tod im Licht nach 6—8 Wochen, im Dunkeln nach 3—5 Wochen ein. Der Lichteffekt hängt nicht von der Chlorophyllgegenwart ab, da nichtgrüne Organe, wie Helodea-Wurzeln, Wurzeln von Weizenkeimlingen u. a., bei Borgegenwart im Licht ebenfalls weit langsamer als im Dunkeln abstarben.

Plasmaviskosität: Diese wird nach Vorbehandlung mit Bor deutlich vermindert, aber nur im Licht; im Dunkeln kann sogar eine leichte Erhöhung der Viskosität eintreten.

Plastiden: In Bor-Lichtversuchen wurden die Plastiden unter Deutlichwerden der Grana rascher als im Dunkeln abgebaut. Im Dunkeln verzögert Bor sogar während einiger Zeit die Abbauvorgänge im Vergleich zu den borfreien Kontrollen. Das im Dunkeln trotzdem raschere Absterben rührt daher, daß nach

einiger Zeit die Destruktionsvorgänge im Dunkeln heftig beschleunigt werden.

Photosynthese: Während der ersten 24 Std. hatte Borzusatz keinen Einfluß auf den Assimilationsgaswechsel. Im Lichtversuch bewirkt 14tägige Vorbehandlung mit kleinen Bormengen Herabsetzung der Photosynthese; im Dunkelversuch wird der Assimilationsapparat dagegen durch Bor vor den Schädigungen, die durch die Verdunklung bewirkt werden, einigermaßen geschützt.

Spezifische Neubildungen: Bei Borkulturen im Licht bilden sich an der Zellwandinnenfläche zapfenförmige Auswüchse, die vornehmlich aus Pektinstoffen bestehen. Ihre Entstehung ist unbedingt an Lichtgegenwart gebunden und stellt eine spezifische Reaktion auf Bor dar; durch keinen anderen der hier an Stelle von Bor angewandten Stoffe konnte die Zapfenbildung erzielt werden. Die wirksame Minimaldosis lag bei 0,005 mg Borsäure pro Liter.

Bormangelerscheinungen oder Wachstumsförderung durch geringe Bormengen ließen sich nicht erzielen.

Im großen und ganzen wirkt Bor auf Helodea im Dunkeln giftiger als im Licht; trotzdem werden zunächst reine Dunkelschäden in ihrer Entwicklung durch Bor zurückgehalten.

XII. Literatur.

Brenchley, W. E., and Warington, K., The rôle of boron in the growth of plants. Ann. Bot. 1927. **41,** 167.

Czapek, F., Zum Nachweis von Lipoiden in Pflanzenzellen. Ber. d. D. Bot. Ges. 1919. **37,** 207.

Frey-Wyssling, A., Der Aufbau der Chlorophyllkörner. (Sammelreferat.) Protoplasma 1938. **29,** 279.

Guilliermond, A., und Hurel-Py, G., Recherches sur certaines particularités cytologiques d'un Saprolegnia. Rev. de Cytologie et de Cytophysiologie végétales. 1938. **3,** 1.

Hofmeister, L., Vergleichende Untersuchungen über spezifische Permeabilitätsreihen. Bibliotheca Botanica. 1935. **113.**

Kalchhofer, Z., Protoplasmazustand nährsalzmangelkranker Pflanzen. Protoplasma. 1936. **26,** 249.

Küster, E., Pathologische Pflanzenanatomie. Jena 1925. 3. Aufl.

—, Die Pflanzenzelle. Jena 1935.

Maier, W., Die Notwendigkeit des Bors in der Pflanze. Ber. d. D. Bot. Ges. 1938. **56,** (84).
Merkenschlager, F., Tafeln zur vergleichenden Physiologie und Pathologie der Kulturpflanzen. Berlin.
Odén, S., Zur Frage der Azidität der Zellmembranen. Ber. d. D. Bot. Ges. 1916. **34,** 648.
Rehm, S., Der Einfluß der Borsäure auf Wachstum und Salzaufnahme von Impatiens balsamina Jahrb. f wiss. Bot. 1937. **85,** 788.
Schmucker, Th., Zur Blütenbiologie tropischer Nymphaea-Arten. II. (Bor als entscheidender Faktor.) Planta. 1933. **18,** 641.
—, Über den Einfluß von Borsäure auf Pflanzen, insbesondere keimende Pollenkörner. Planta. 1935. **23,** 264.
Strugger, S., Weitere Untersuchungen über die Vitalfärbung der Plastiden mit Rhodaminen. Flora. 1937. N. F. **31,** 324.
Vöchting, H., Untersuchungen zur experimentellen Anatomie und Pathologie des Pflanzenkörpers. I. Tübingen 1908.
Weber, Fr., Plasmolyseform und Protoplasmaviscosität. Österr. Bot. Zeitschr. 1924. **73,** 261.
—, Plasmolysezeitmethode. Protoplasma. 1928. **5,** 622.
—, Unterschiede in der Säureresistenz der Helodea-Blattzellen. Protoplasma. 1932. **16,** 287.

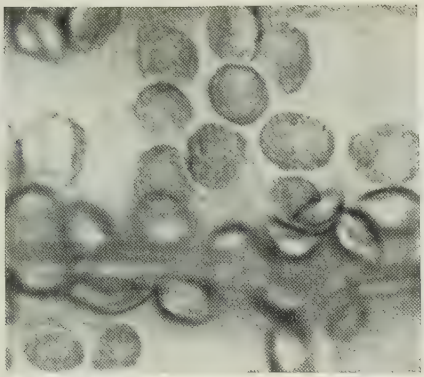
Tafelerklärung.

Tafel VI.

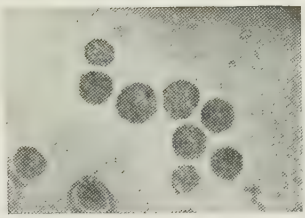
Abb. 1. Kontrolle ohne Bor im Licht. Bemerkung: Die Plastiden sind wegen Anwesenheit von Stärkekörnern vergrößert. Ihre tatsächliche Größe entspricht der in der Abb. 4.
Abb. 2. Kontrolle ohne Bor im Dunkeln.
Abb. 3. Mit Bor im Licht.
Abb. 4. Mit Bor im Dunkeln.
(Abb. 1—4: Querschnitt durch einen Versuch mit 0,01proz. Borsäure nach 12 Tagen.)
Abb. 5. Zapfenbildung. Frühes Stadium.
Abb. 6. Zapfenbildung. Spätes Stadium.

Tafel VII.

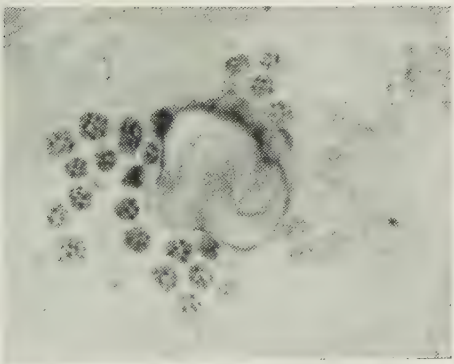
Abb. 7. Zapfenbildung. Spätes Stadium.
Abb. 8. Blattquerschnitt mit Zapfenbildung. Junges Stadium.
Abb. 9. Ebenso. Junges Stadium.
Abb. 10. Übersichtsbild.
Abb. 11. Übersichtsbild.
(Abb. 1—9: Vergrößerung 1200 fach.)
(Abb. 10 und 11: Vergrößerung 400 fach.)



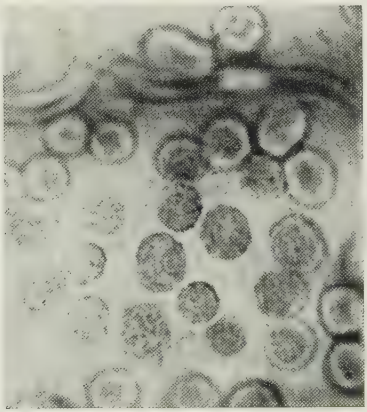
1



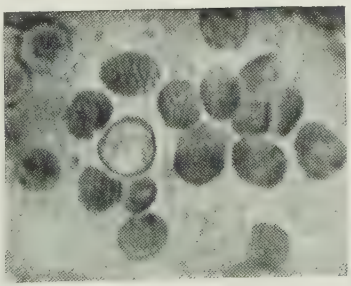
2



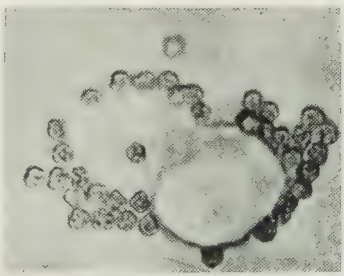
3



4



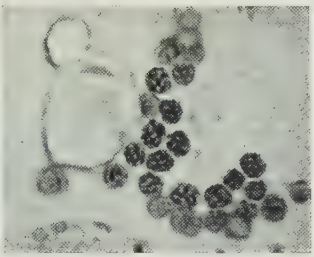
5



6

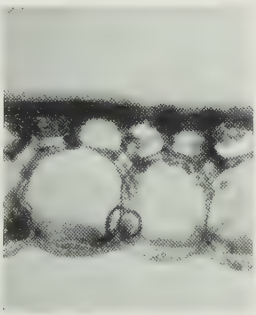
Macke.

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

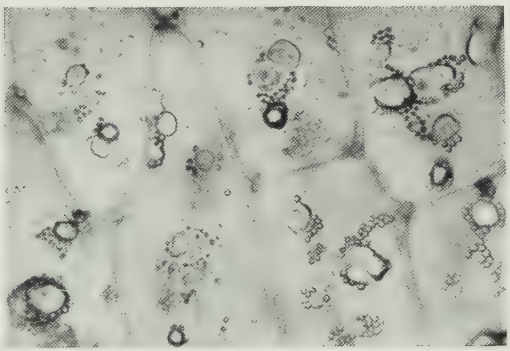


7

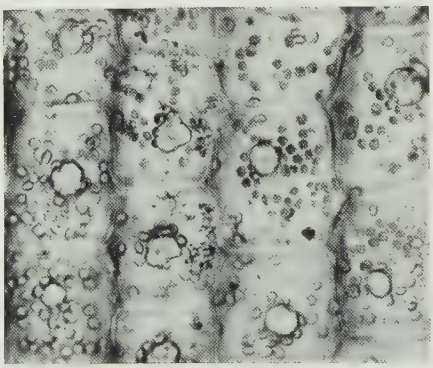
8



9



10



11

VERLAG VON GUSTAV FISCHER IN JENA

Lebenslauf.

Am 8. Februar 1913 wurde ich, Wolfgang Macke, als Sohn des Kunstmalers August Macke in Bonn am Rhein geboren. Mein Vater fiel im Alter von 27 Jahren im September 1914 in der Champagne. 1919 kam ich auf die Vorschule des Städtischen Gymnasiums in Bonn und wurde Ostern 1922 in die Sexta des Gymnasiums aufgenommen. 1925 siedelte meine Familie nach Berlin über und ich trat Ostern in die Untertertia des humanistischen Städtischen Gymnasiums Berlin-Tempelhof ein, das später mit dem Askanischen Gymnasium zusammengelegt wurde. Im Frühjahr 1931 verließ ich das Vereinigte Askanische und Tempelhofer Gymnasium mit dem Reifezeugnis. Auf den Universitäten Heidelberg, München, Bonn und Berlin studierte ich Chemie, Physik und Biologie. Vor allem widmete ich mich dem Studium der Botanik. Nach Schluß des Wintersemesters 1935/36 ließ ich mich an der Universität Berlin exmatrikulieren. Von Oktober 1935 bis November 1938 war ich mit meiner Dissertationsarbeit im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Berlin beschäftigt. Im Sommer 1938 machte ich eine Übung bei der Wehrmacht. Am 27. Dezember 1937 heiratete ich in Bonn Gisela Viktoria Hedwig Karla geb. Thuar.

Buchdruckerei F. Mitzlaff, Rudolstadt/Thür.